

ESTUDIO PRELIMINAR DE BIOLOGIA FLORAL EN MORA DE CASTILLA (*Rubus glaucus* Benth)

¹ Gloria Esperanza Santana Fonseca ⁶

² Maria Victoria Echeverri Márquez

La mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) se ha considerado una fruta promisoría desde sus inicios, cuando en huertos junto a las casas campesinas crecían sin guías ni podas, sin fertilización o muchas veces hecha con los desperdicios orgánicos de la misma casa; que se autoconsumía en dulces o jugos y los excedentes de una buena cosecha se vendían a los vecinos, en las tiendas o plazas de mercado por puchas envueltas en hojas de papel (Rodríguez et al., 1998). Hoy día gracias a las prácticas sobresalientes de productores inquietos y empeñados en hacer de la mora un cultivo comercial y a las investigaciones realizadas en la década de los 90, se encuentran cultivos caseros y comerciales que aplican en diferente grado la tecnología disponible en cuanto a calidad del suelo, densidades de siembra, propagación; manejo de podas, malezas, enfermedades y plagas, sistemas de tutorado, fertilización, cosecha, poscosecha y comercialización (Eraso, 1982; Monroy et al., 1985; Botero et al., 1996).

El efecto directo de esta tecnificación junto con el creciente interés de la agroindustria, de consumidores, de asociaciones de agricultores y de programas de gobierno, se observó en un incremento del área cultivada que pasó de 2.585 hectáreas en 1992, a 5.662 hectáreas en 1998, y en la producción nacional que a su vez pasó de 17.700 t/año en 1992, a 40.000 t/año en 1996 (CCI, 1999).

A pesar de estos logros, los rendimientos sólo muestran un incremento de 1.8% en los últimos diez años; además, las exportaciones han pasado de 210 toneladas en 1992, a 6.4 en 1998, consecuencia del uso de material vegetativo que carece de las mejores características agronómicas, pues la mora de Castilla presenta entre 6.8 y 7.8 grados Brix, factor que la hace poca apetecida en los mercados internacionales (CCI, 1999). Este escenario, es debido a la carencia de bancos de germoplasma, a la falta de caracterización de los materiales y a la poca disponibilidad de los mismos. Así mismo, a la falta de programas de mejoramiento que liberen materiales que suplan las necesidades del agricultor y de los dos grandes consumidores, los de fruta fresca y las agroindustrias.

En los programas de mejoramiento en frutales, la hibridación es uno de los métodos utilizados para obtener progenies de características sobresalientes por medio de polinizaciones controladas. Para ello es necesario conocer la biología floral, que permite identificar la morfología, factores fisiológicos o genéticos que favorecen o impiden la polinización, la fertilización y el método de cruzamiento más práctico y efectivo para obtener semilla viable. Aunque en la mayoría de los frutales se conoce la biología floral es necesario realizar un estudio de ésta en los lugares en donde se realizan las hibridaciones, debido a que las condiciones ambientales pueden ocasionar cambios en la floración.

El presente trabajo tiene como objetivo contribuir al estudio de la biología floral del cultivo de la mora de Castilla, como un paso para establecer el programa de mejoramiento vegetal, encaminado hacia la búsqueda de materiales con calidad de fruta para el consumo en fresco y/o para la agroindustria.

MATERIALES Y METODOS

La investigación se llevó a cabo en un lote semicomercial de 22 meses de edad, establecido en el Centro de Investigación "La Selva", de CORPOICA, en Rionegro, Antioquia; a una altura de 2.120 m.s.n.m., temperatura promedio de 17°C, precipitación anual aproximada de 1.800 mm y la zona de vida es bosque húmedo montano bajo (bh-MB)

¹ Bióloga, MSc. Fitomejoramiento. Grupo investigación Agrícola, Corpoica C.I. La Selva, Rionegro, Antioquia, Apartado A. 100. E-mail : corpoica@epm.net.co Fax (094) 5371369.

² Tecnóloga en Producción Agrícola, Tecnológico de Antioquia.

DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE PISTILOS Y ESTAMBRES EN LA FLOR DE MORA DE CASTILLA

Para determinar el número de pistilos y estambres presentes en la flor de mora de Castilla se escogieron cinco plantas sanas de mora de Castilla que presentaba botones florales sin abrir; cada planta fue una repetición. En cada repetición se marcaron 10 flores de 0.7 mm de diámetro. Se recolectaron las 50 inflorescencias al día siguiente y se realizó el conteo de estambres y pistilos de cada flor con ayuda del estereomicroscopio.

DETERMINACIÓN DEL GRADO DE APERTURA FLORAL QUE PRESENTA MAYOR PORCENTAJE DE VIABILIDAD DEL GRANO DE POLEN

Con el fin de determinar la edad de la flor, en la cual presenta el mayor número de granos de polen viables se clasificó la flor en varios estados. El estado inicial o uno se identificó como botón floral de 7 mm de diámetro, con los órganos reproductores (estambres y pistilos) bien desarrollados. Los estados intermedios se establecieron al aumentar un día en la apertura floral, tomando por referencia el estado uno, hasta llegar al día séptimo.

Para determinar la viabilidad del grano de polen se utilizaron dos tinciones.

Tinción con acetocarmín. Se escogieron dos plantas sanas de mora de Castilla que presentaban botones florales cerrados de 7 mm de diámetro. Se marcaron 28 flores por planta, para hacer la evaluación desde el día cero de apertura floral hasta el día séptimo. Para cada uno de los días, sólo se tomaron tres flores por planta, para un total de seis por día; dejando las demás flores en la planta hasta el día de la evaluación. Se extrajeron las anteras sobre un portaobjeto, en donde se cubrieron con una gota de Tween-20 (1 ml/l) y se rompieron los sacos polínicos con una pinza para extraer los granos de polen. La coloración de los granos de polen en 0.1 ml de acetocarmín fue por tres minutos. Para la lectura se realizaron dos montajes en la cámara de Neubauer, por flor, para un total de doce para cada estado de apertura floral. Los conteos de los granos de polen coloreados se realizaron en cinco cuadrantes con el objetivo 10X.

Tinción con trifeniltetrazolio. La tinción se realizó con la misma metodología utilizada con acetocarmín desde la selección de las plantas hasta colocar los granos de polen en 0.1 ml de trifenil tetrazolio, durante 16 horas a temperatura ambiente y en oscuridad.

Para la lectura se realizaron dos montajes en la cámara de Neubauer por flor, para un total de doce para cada estado de apertura floral. Los conteos de los granos de polen coloreados se realizaron en cinco cuadrantes con el objetivo de 10X.

Determinación del método de polinización que presenta el mayor porcentaje de cuajamiento de fruto. Para determinar cuál de los métodos entre autopolinización y polinización cruzada favorecía el mayor número de frutos formados, se seleccionaron 30 plantas sanas de mora de Castilla que presentaban botones florales. Diez botones florales cerrados de 7 mm de diámetro por planta, fueron cubiertos con glacines, para el tratamiento de autopolinización (foto1).

Así mismo, se seleccionaron otras 30 plantas y se marcaron diez botones cerrados por planta. A esta flores se les retiraron los estambres, para el tratamiento de polinización cruzada.

Se dejaron en el campo las 300 flores del tratamiento de autopolinización como de polinización cruzada durante 20 días, al cabo de los cuales las flores fueron colectadas y se realizó el conteo de drupas formadas por tratamiento.

De otra parte, se evaluó el promedio de drupas formadas en autopolinización con sólo las anteras internas y con sólo las externas. Para esto se escogieron 10 botones cerrados por cada una de las 30 plantas sanas seleccionadas. Las 300 flores fueron cubiertas por un glacín. Al día siguiente se retiraron los estambres internos a 150 flores y los externos a las otras 150 flores. Las flores fueron cubiertas por los glacines nuevamente por espacio de 20 días, al termino de los cuales fueron cosechados para el conteo de las drupas formadas.

RESULTADOS Y DISCUSION

DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE PISTILOS Y ESTAMBRES EN LA FLOR DE MORA DE CASTILLA

Al promediar las cinco repeticiones se obtuvo 173.6 pistilos y 65.8 estambres. Según (Mc Gregor, 1976) la flor posee de 50 a 100 estambres alrededor de un número semejante de pistilos. Esto muestra el potencial que presenta la mora de Castilla para formar las drupas, en el fruto compuesto.

Además, se observó que las flores con un día de apertura floral y forma de campana, presentaron dos tamaños en la altura de los estambres, los más cortos estaban adyacentes a los estigmas y los más largos en la parte externa de la flor; estas mismas observaciones fueron reportadas por Free, en 1968.

DETERMINACIÓN DEL ESTADO DE APERTURA FLORAL QUE PRESENTA MAYOR PORCENTAJE DE VIABILIDAD DE LOS GRANOS DE POLEN

Tinción con acetocarmin. Con el análisis de varianza se obtuvieron diferencias significativas entre los días de apertura floral que presentan un mayor número promedio de granos de polen viables por mililitro. Los granos viables presentaron una coloración roja, que también ha sido descrita en tomate de árbol (Castro y Trillos, 1998) y en especies del género *Passiflora* (Palacio et al., 1997). Mediante la prueba de Duncan al 0.05%, los promedios más altos de viabilidad de grano de polen se



Foto 1. Botones florales de mora cubiertos con glaciés en el tratamiento de autopolinización

respectivamente, mientras que los días de apertura floral de 4, 5 y 6 días no muestran diferencias entre sí y presentan los promedios de viabilidad más bajos (Tabla 1).

Tinción con trifeniltetrazolio. Los granos de polen viables mostraron una coloración roja, mientras que los no viables no presentaron coloración. Se observó que los granos de polen viables presentaban una forma más definida, mientras que los no viables eran arrugados y de diversas formas, esta irregularidad en la forma también ha sido descrita en estudios morfológicos (McGregor, 1976). Mediante el análisis de varianza se obtuvieron diferencias altamente significativas entre los días de apertura floral que presentaban mayor número de granos de polen viables. El día dos de apertura floral presentó el mayor promedio de $43.34 \times 10^3/\text{ml}$; mientras que los días de apertura 0, 3 y 4 días no mostraron diferencias entre ellos. Así mismo, los días 5 y 6 de apertura floral presentaron los promedios más bajos (tabla 2).

TABLA . Comparación de medias por Duncan a 0.05%, en la tinción de granos de polen de mora de Castilla con acetocarmín

Orden original		Orden de las medias	
Apertura floral (días)	granos de polen ($\times 10^3/\text{ml}$) promedio	Apertura Floral (días)	granos de polen ($\times 10^3/\text{ml}$) promedio
0	6.75 B	2	17.25 A
1	6.00 BC	3	16.00 A
2	17.25 A	0	6.75 B
3	16.00 A	1	6.00 BC
4	3.55 CD	4	3.55 CD
5	2.46 D	5	2.46 D
6	2.05 D	6	2.05 D

Al comparar los dos tipos de tinciones, el día dos de apertura floral es el día más apto para tomar el polen viable. La identificación de este día facilitará los trabajos de polinización cruzada en el programa de mejoramiento vegetal, que utilice el método de hibridación. Así mismo, los días 5 y 6 de apertura floral son los de menor viabilidad lo que determina el tiempo que deben estar las flores cubiertas por los glaciños en tratamientos de polinización cruzada controlada.

TABLA 2. Comparación de medias por Duncan al 0.05%, en la tinción de granos de polen de mora de Castilla con trifeniltetrazolio.

Orden original		Orden de las medias	
Apertura floral (días)	granos de polen ($\times 10^3/\text{ml}$) promedio	Apertura Floral (días)	granos de polen ($\times 10^3/\text{ml}$) promedio
0	19.25 B	2	43.34 A
1	7.09 C	0	19.25 B
2	43.34 A	4	16.25 B
3	10.67 BC	3	10.67 BC
4	16.25 B	1	7.09 C
5	1.88 D	5	1.88 D
6	1.80 D	6	1.80 D

Determinación del método de polinización que presenta el mayor porcentaje de cuajamiento de fruto. De acuerdo a los resultados de análisis de varianza se encontró que hay diferencias altamente significativas entre los tratamientos de autopolinización y polinización cruzada. Este último favoreció el mayor número de drupas formadas con un promedio de 112.52, mientras la autopolinización es de 24.6. Así mismo se observó que la calidad en cuanto a la homogeneidad del tamaño de las drupas formadas por polinización cruzada fue mejor (Foto 2).

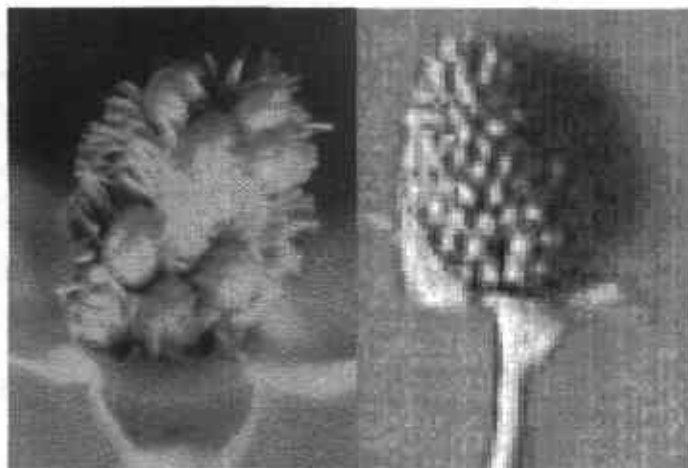
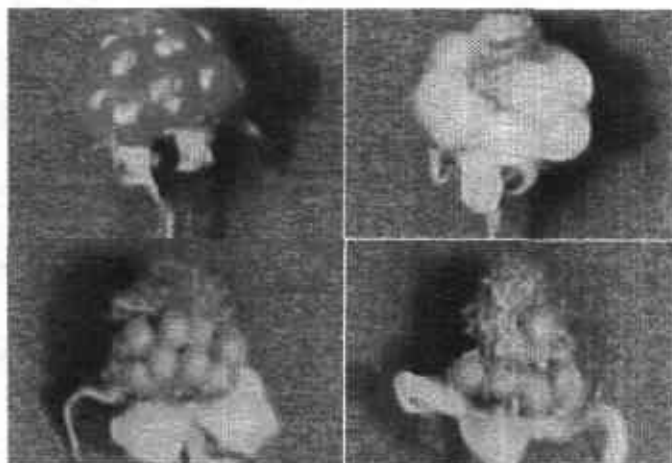


Foto 2. A. Fruto formado por autopolinización;
B. Fruto formado por polinización cruzada

En cuanto a la formación de drupas con autolinización con las anteras internas y externas, hubo diferencias significativas entre tratamientos. La formación de drupas se vio favorecida por la autopolinización con las anteras internas con un promedio de 29.94, mientras que la autopolinización con las anteras externas fue de 23.72. (Foto 3). Esto se puede deber al hecho de que primero se libera el polen de los estambres más externos que normalmente caen afuera de la flor, mientras que los estambres más internos son por su ubicación los únicos que logran fertilizar algunos estigmas directamente adyacentes, sino hay un agente transportador de polen (Botero, 1994; Condor, 1973; Free, 1968).



Estos resultados sugieren que aunque la mora de Castilla es una especie de polinización cruzada, puede presentar parcialmente autoincompatibilidad, con 20% de autopolinización.

De otra parte, teniendo en cuenta el número promedio de pistilos presentes en la flor de mora, sólo 64% de los pistilos de la flor forman drupas por medio de la polinización cruzada, y 14% con la autopolinización.

Foto 3. A. Drupas formadas por autopolinización con las anteras internas; B. Drupas formadas por autopolinización con las anteras externas, en el fruto de mora

BIBLIOGRAFIA

- BOTERO, N. 1994.** Efectos de la Polinización por Abeja Melífera (*Apis mellifera* L. Hymenoptera: Apidae) sobre la Producción de Mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth), Universidad Nacional de Colombia. Medellín, 69 p.
- BOTERO, R., Franco, G., Giraldo, M., y Abad D. 1996.** Memorias. Primer Seminario de Frutales de Clima Frío Moderado. Editores. Manizales
- CASTRO, I., y Trillos, O. 1998.** Hibridación en Tomate de Árbol (*Solanum betaceum* Cav.). Trabajo de práctica. Grupo de Investigación Agrícola. C.I. La Selva, Rionegro. 35 p.
- CONDOR, I. 1973.** Bee Pollination of Crops in Ohio. En: Ohio State University Coop. Ex. Service. Bull. pp 12
- CORPORACIÓN COLOMBIA INTERNACIONAL. 1999.** Perfil de mora. Boletín No.3:1-19. Abril-Junio.
- ERAZO, B. 1982.** El cultivo de la Mora de Castilla. Cartilla divulgativa No.13. ICA. 16 p.
- FREE, J. 1968.** The Pollination of Fruit Trees. En: Bee worib. Vol.41, N. 141-151 pp. 169-186.
- MONROY, E. y Alfonso, R. 1985.** Producción y Mercadeo de la Mora de Castilla en la Región de Florida, Cundinamarca. Tesis. Facultad de Administración Agropecuaria. Universidad de la Salle. 127 p.
- PALACIO, D., Lobo, M., Medina, C. 1997.** Cruzabilidad Entre Algunas Especies del Género *Passiflora* y Biología Floral de *P. adenopoda* y *P. coerulea*. Trabajo de práctica. Recursos genéticos. C.I. La Selva. Rionegro. 57p.
- REYES, C. 1981.** Mejoramiento Genético de Frutales Tropicales. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia. Medellín. 124 p.
- RODRIGUEZ, J., RODRÍGUEZ, A., FRANCO, G., SANTANA, G., y BERNAL, J. 1998.** Importancia Socioeconómica del Cultivo de Mora (*Rubus glaucus* Benth) en el eje cafetero y Antioquia. Manizales. 54 p.